

## REVENDICATIONS

1. Un procédé de traitement en continu, semi-continu ou  
5 discontinu d'un substrat (24) installé dans un récipient bioréacteur (1), lequel substrat est soumis à l'action de cellules vivantes C1 permettant d'effectuer une réaction R1, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- a) on prélève des cellules vivantes C1 du substrat présent dans la cuve du  
récipient bioréacteur (1) pour les transférer dans un dispositif de sélection  
10 automatique (2) d'une population de cellules vivantes proliférant en suspension, lequel dispositif est alimenté soit par un substrat différent soit par le même substrat (24) que le récipient bioréacteur (1) de sorte à obtenir des cellules vivantes C2 permettant d'augmenter le rendement de la réaction R1, et  
15 b) on inocule périodiquement ledit substrat à l'aide des nouvelles cellules vivantes C2 obtenues à l'étape précédente.

2. Un procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le dispositif de sélection automatique (2) des cellules proliférant en suspension, comporte :

- 20 - deux récipients (20, 21) ou plus permettant de recevoir et maintenir des cultures de cellules vivantes en suspension,  
- un ensemble de moyens permettant d'alimenter séparément ces récipients en fluides de stérilisation (25), de nettoyage ou de neutralisation,  
- un ensemble de moyens permettant d'alimenter ces récipients en gaz (23),  
25 - un ensemble de moyens permettant d'alimenter ces récipients en substrat (24),  
- un ensemble de moyens (28-31) permettant de transférer le contenu d'un récipient (20) dans l'autre (21) et vice-versa,  
- un ensemble de moyens permettant d'évacuer tout ou partie du contenu de  
30 ces récipients vers un autre dispositif tel qu'un récipient bioréacteur (1),  
- un ensemble de moyens permettant d'évacuer tout ou partie du contenu de

ces récipients (20,21) vers une poubelle.

3. Un procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que le dispositif de sélection automatique de cellules proliférant en suspension comporte notamment :

- 5 - au moins un premier et au moins un deuxième récipient de culture (20, 21) destinés à recevoir une culture (22),
- une source de gaz (23),
- une source de milieu (substrat)(24),
- une source (25) pour un agent stérilisant, et
- 10 - un système de conduites comportant des moyens pour relier au choix l'un des deux récipients de culture (20 ou 21) à la source de milieu (24) tels que des vannes ainsi que les deux récipients de culture (20, 21) entre eux, et pour relier au choix l'autre récipient de culture (20 ou 21) à la source (25) de l'agent stérilisant.

- 15 4. Un procédé selon l'une des revendications 1 à 3 , caractérisé en ce que les cellules vivantes C2 sont issues de la sélection effectuée parmi une population de cellules vivantes proliférant exclusivement en suspension.

- 20 5. Un procédé selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le récipient bioréacteur (1) est un bassin d'aération d'une station d'épuration, le bassin de méthanisation d'une unité de traitement biologique anaérobie, une lagune, un plan d'eau, une cuve de 0,5 litre à 100 m<sup>3</sup> ou un fermenteur.

- 25 6. Un procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que les cellules vivantes C2 utilisées augmentant le rendement de la réaction de bioconversion peuvent notamment être produites par mise en œuvre d'un procédé comportant les étapes suivantes :

- (a) mise à disposition d'une culture (22) dans au moins un premier récipient de culture (20),
- 30 (b) alimentation continue de la culture (22) dans le premier récipient de culture (20) avec du gaz à partir d'une source de gaz (23) et réapprovisionnement

PCT/FR2004/002476

3

- régulier en liquides à partir d'une source de substrat (24),
- (c) transfert de la culture (22) du premier récipient de culture (20) par des conduites de liaison (28-31) dans au moins un second récipient de culture (21) au moyen d'un circuit de conduite approprié,
  - 5 (d) connexion du premier récipient de culture (20) avec une source (25) pour un agent stérilisant, pour stériliser le premier récipient de culture (20),
  - (e) enlèvement de l'agent stérilisant du premier récipient de culture (20),
  - (f) alimentation continue de la culture (22) dans le second récipient de culture (21) avec du gaz à partir de la source de gaz (23) et réapprovisionnement
  - 10 régulier en liquides à partir de la source de milieu (24),
  - (g) retour de la culture (22) du second récipient de culture (21) par les conduites de liaison (28-31) dans le premier récipient de culture (20) au moyen d'un circuit de conduite approprié,
  - (h) connexion du second récipient de culture (21) avec la source (25) pour l'agent
  - 15 stérilisant, pour stériliser le second récipient de culture (21), et
  - (i) enlèvement de l'agent stérilisant du second récipient de culture (21).

7. Un procédé selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que le substrat (24) est

- un milieu contenant un composé dont on envisage la conversion métabolique,
- 20 par exemple une eau d'origine industrielle, une eau d'origine municipale par exemple des eaux usées domestiques, un polluant accidentel de l'environnement par exemple la présence en mer d'une nappe d'hydrocarbures ou d'autres produits chimiques, un effluents chimique répandu sur le sol, un sol pollué aux métaux lourds ou à la dioxine, ou
- 25 - un composé dont on envisage la conversion métabolique par exemple le glucose, l'éthanol ou l'acide oxalique, ou
- un composé organochloré volatil, un pesticide organochloré, un hydrocarbure aromatique polycyclique halogéné ou un solvant.

8. Un procédé selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisé

30 en ce que la cellule vivante comprend une ou plusieurs espèces bactériennes, des cellules animales ou végétales, des algues, des levures ou des

champignons.

9. Un procédé selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que l'inoculation périodique en provenance du dispositif de sélection automatique (2) de cellules vivantes est effectuée au moins une fois par 5 semaine.

10. Un dispositif de culture de cellules vivantes caractérisé en ce qu'il comprend :

- A : un récipient bioréacteur (1) apte à contenir des cellules vivantes C1 réalisant une réaction R1 de bioconversion d'un substrat (24);
- 10 - B : un dispositif de sélection de cellules vivantes privilégiant la sélection de cellules vivantes C2 proliférant en suspension, lesdites cellules vivantes C2 étant des variants dérivant de cellules vivantes C1 initialement présentes dans le bioréacteur (1) et lesdites cellules C2 permettant d'augmenter le rendement de la réaction R1 de bioconversion dudit substrat (24),
- 15 - C : un système de conduites (5) comportant des moyens pour opérer des transferts du dispositif de sélection (2) vers le récipient bioréacteur (1) ;et
- D : un système de conduites (6) comportant des moyens pour opérer des transferts du récipient bioréacteur (1) vers le dispositif de sélection (2),
- E : optionnellement une conduite (15) comportant des moyens pour relier le 20 récipient bioréacteur (1) à un dispositif de séparation solide-liquide tel qu'un décanteur (16),
- F : optionnellement une conduite d'évacuation du fluide (eau par exemple) traité,
- G : optionnellement un dispositif de régulation de température.

25 11. Un dispositif de culture de cellules vivantes selon la revendication 10, caractérisé en ce que le dispositif de sélection (2) comprend:

- deux récipients (20,21) ou plus permettant de recevoir et maintenir des cultures de cellules vivantes en suspension,
- un ensemble de moyens permettant d'alimenter ces récipients en substrat 30 (24),
- un ensemble de moyens (28-31) permettant de transférer le contenu d'un

PCT/FR2004/002476

5

réceptient (20) dans l'autre (21) et vice-versa

- un ensemble de moyens permettant d'évacuer tout ou partie du contenu de ces réceptients vers un autre dispositif tel qu'un réceptient bioréacteur (1)
- un ensemble de moyens permettant d'évacuer tout ou partie du contenu de ces réceptients (20,21) vers une poubelle.

5

12. Un dispositif de culture de cellules vivantes selon l les revendications 10 ou 11, caractérisé en ce que le dispositif de sélection de cellules vivantes proliférant en suspension comprend :

- au moins un premier et au moins un deuxième réceptient de culture (20, 21) destinés à recevoir une culture (22)
- une source de gaz (23),
- une source de milieu (2),
- une source (25) pour un agent stérilisant; et
- un système de conduites comportant des moyens pour relier au choix l'un des deux réceptients de culture (20 ou 21) à la source de milieu (24) tels que des vannes ainsi que les deux réceptients de culture (20, 21) entre eux et pour relier au choix l'autre réceptient de culture (20 ou 21) à la source (25) de l'agent stérilisant.

10

15

13. Un dispositif selon l'une quelconque des revendications 10 à 12, caractérisé en ce que le réceptient bioréacteur (1) est un bassin d'aération d'une station d'épuration, le bassin de méthanisation d'une unité de traitement biologique anaérobie, une lagune, un plan d'eau ou une cuve de 0,5 litre à 100 m<sup>3</sup>.

20